

RÉGÉNÉRATION DE LA PHÉOPHYCÉE *SARGASSUM MUTICUM* (PHÉOPHYCÉE, FUCALE)

T. GIVERNAUD**, J. COSSON** et A. GIVERNAUD-MOURADI*

*Département de Biologie, Faculté des Sciences de
Kenitra, Maroc.

** Laboratoire d'Algologie fondamentale et
appliquée de l'Université de Caen, 39 rue
Desmoueux, 14000-Caen.

RÉSUMÉ - Les capacités de régénération de la partie basale de la Phéophycée *Sargassum muticum* (Yendo) Fensholt ont été évaluées en culture. Le développement de nouveaux axes sur le pourtour du disque de fixation se fait à partir de cellules végétatives du disque. Les capacités de régénération des disques entiers et de tronçons correspondant à différentes parties du disque ont été observées. Les rameaux du thalle inhibent le développement de ces nouveaux axes et des phénomènes de dominance existent à l'intérieur même du disque entre la partie externe et la partie centrale.

ABSTRACT - The regenerative ability of the holdfast of *Sargassum muticum* has been studied. The development of new axes on the fixation disk's periphery has been observed in photonic microscopy and we have been able to say that they are probably born from a vegetative cell of the disk. The regenerative ability of disks, maimed disks, and pieces of disks have been measured. There is an inhibition of the development of these new axes by the ramifications of the primary axe and in the disk himself there are interactions between the different parts.

MOTS CLÉS : *Sargassum muticum*, régénération.

INTRODUCTION

L'envahissement des côtes françaises depuis 1975 (Cosson *et al.*), et plus particulièrement des côtes normandes, par l'algue brune *Sargassum muticum* (Yendo) Fensholt entraîne des nuisances variées vis-à-vis des activités littorales; mais aucune technique n'a jusqu'à présent permis d'éliminer cette espèce de ces zones sensibles, en raison à la fois de la très grande efficacité de la reproduction sexuée et des possibilités de régénération de certaines parties du thalle.

Le thalle (Figure 1) est constitué d'un disque de fixation sur lequel se développe un axe primaire pérennant à croissance très lente. Au printemps, la cellule apicale de cet axe, en se divisant, est à l'origine des initiales des



Fig. 1: Morphologie du thalle de *Sargassum muticum* (1: disque de fixation; 2: axe primaire pérennant; 3: axe secondaire annuel; 4: ramification de premier ordre; 5: ramification de deuxième ordre; 6: aërocyste; 7: expansion foliacée).

axes secondaires annuels à croissance rapide. Cette partie caduque à port monopodial dégénère en automne après la période de fertilité de l'algue et se détache de l'axe primaire. Pendant l'hiver ne subsiste que le disque

surmonté de l'axe primaire, ensemble que nous appellerons "souche". Fletcher *et al.* (1975) ont montré que les axes possèdent une très forte capacité de régénération. La souche peut subsister plusieurs années (Critchley, 1981). Au cours du temps, le disque de fixation augmente de taille. Il n'est pas rare de trouver, surtout sur des zones peu abritées de la côte, des disques de fixation portant plusieurs axes primaires; enfin la périphérie du disque peut supporter de jeunes axes de petite taille (1 à 5mm de haut ne portant qu'une ou deux expansions foliacées), qui seraient, selon Critchley (1983), de jeunes plantules germant à partir de zygotes tombés sur le disque.

Au cours de ce travail, ont été réalisées des études morphologiques et anatomiques du développement de ces axes surnuméraires sur le disque et étudiées les potentialités régénératrices du disque de fixation soumis à différentes conditions de culture, car les souches ou les fragments de disque laissés en place après arrachage peuvent être à l'origine du repeuplement rapide des zones ainsi nettoyées.

Nous appelons potentialités régénératrices des disques leur capacité à engendrer des axes primaires dressés surnuméraires, ce qui correspond à un changement d'orientation spatiale des divisions cellulaires (croissance tridimensionnelle).

MATÉRIEL ET MÉTHODES

Sargassum muticum a été récoltée sur la côte occidentale du Cotentin (Normandie, France). De façon à ne pas léser les tissus du disque, le substrat sous-jacent est récupéré en même temps que le thalle.

Les observations sur les tissus en cours de régénération ont été effectuées en utilisant les techniques histologiques classiques.

Les cultures ont été réalisées dans des bacs, en circuit fermé, contenant 3 litres d'eau de mer filtrée non enrichie. Chaque bac estensemencé par quelques grammes d'algues. Cette faible quantité de tissu par rapport au volume d'eau compense la pauvreté relative du milieu de culture (eau de mer filtrée renouvelée toutes les semaines). Cette solution a été choisie de préférence à celle utilisant un milieu enrichi pour obtenir des conditions aussi proches que possible de celles du milieu naturel.

Toutes les cultures, réalisées à $15 \pm 1^\circ\text{C}$ (température moyenne printanière, assurant une bonne croissance de l'espèce) sont éclairées par des tubes fluorescent type "blanc industrie", assurant une intensité de 12 W.m^{-2} pendant 16 heures par cycle de 24 heures.

Trois sortes de cultures ont été réalisées:

Cultures de souches

Les souches, laissées en place sur leur substrat (pour ne pas détériorer la périphérie du disque de fixation) sont placées dans un cristalliseur où est assurée une circulation en milieu fermé (Fig. 2a).

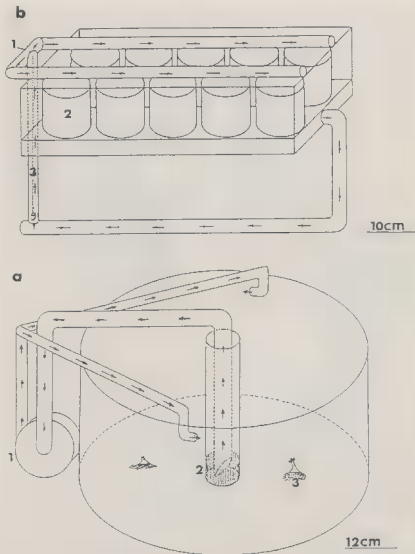


Fig. 2: -a: bac utilisé pour la culture des souches entières (1: pompe; 2: crépine d'aspiration; 3: souches; → sens de la circulation de l'eau). -b: bac utilisé pour la culture des fragments (1: arrivée d'air; 2: cylindre de culture; 3: exhausteur; → sens de circulation de l'eau).

Culture de fragments de disques

Des fragments sont prélevés dans les différentes parties de la souche (Fig. 3) à l'aide d'un emporte-pièce de 4mm de diamètre. Afin de repérer fa-

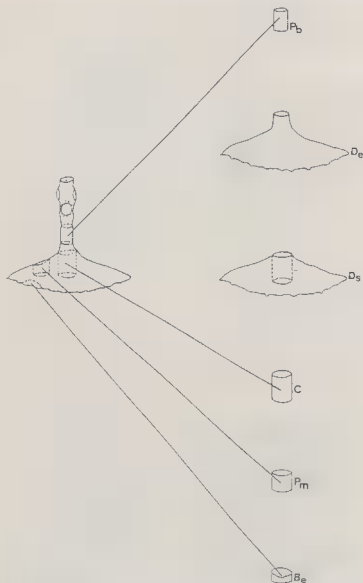


Fig. 3: Différents types de fragments prélevés dans la partie pérennante du thalle (Pb: partie basale de l'axe primaire; De: disque entier; Ds: disque privé de sa partie centrale; Pm: partie moyenne du disque; Be: bord externe du disque; C: partie centrale du disque).

cilement leurs faces supérieure ou inférieure, ils sont maintenus par un système de tubes et de grillage plastique dans leur position d'origine. Ces en-

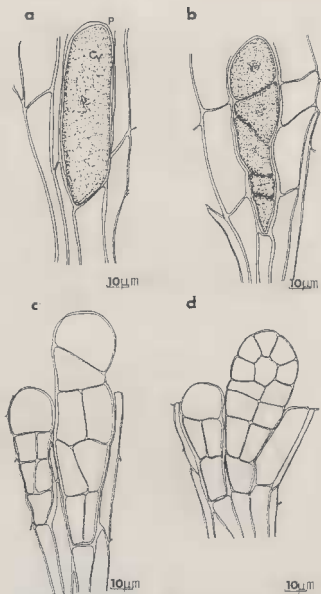


Fig. 4: Premières phases du développement des régénérations. -a: initiation de la régénération (P: paroi; Cy: cytoplasme). -b: filament issu des divisions de la cellule initiale. -c: premiers cloisonnements longitudinaux du filament. -d: premiers stades de développement du massif cellulaire.

sembles sont disposés dans un bac où l'agitation est assurée par une importante circulation d'eau (Fig. 2) en milieu clos. La capacité de régénération est mesurée par le pourcentage de fragments portant au moins l'amorce d'un axe nouveau rapporté au nombre de fragments mis en culture.

Culture de fragments de disques de petite taille

Dans ce cas, les morceaux de tissus ont été débarrassés des épiphytes (algues, bactéries ou champignons) en nettoyant d'abord énergiquement les disques. Après un rinçage soigneux dans de l'eau de mer stérile, les disques sont trempés rapidement dans deux bains successifs d'hypochlorite de calcium à saturation et d'éthanol à 70%. Après plusieurs rinçages dans de l'eau de mer stérile, les disques sont découpés de manière à éliminer les tissus superficiels lésés par le traitement. Les cultures sont donc effectuées uniquement à partir des tissus profonds dans lesquels sont prélevés des cubes de 0,5 à 4mm de côté. Les fragments sont placés par lots de vingt dans des flacons stériles contenant 75cm³ de milieu nutritif entièrement synthétique (ASP6 F2 de Fries, 1962).

RÉSULTATS

- Étude anatomique des axes primaires surnuméraires formés à partir de fragments de thalles.

Des séries de coupes réalisées sur différents fragments mis en culture ont permis de reconstituer la chronologie du développement. Que ce soit sur des disques entiers, des fragments de disques ou des axes, les différentes étapes de cette régénération sont les mêmes:

Phase d'initiation (Fig. 4a)

Dans les tissus, certaines cellules, généralement les plus superficielles, se singularisent par une augmentation de leur pigmentation, du fait d'un développement de l'appareil photosynthétique et par une multiplication des organites cellulaires. Il se produit un épaississement et une modification de la paroi marquée par un changement de réaction vis-à-vis du bleu de toluidine: elle se colore en bleu violacé foncé alors que la coloration dans le reste du tissu est nettement plus claire tendant vers le mauve.

Phase de division cellulaire

Par des divisions transversales observées dans la cellule initiale (Fig. 4b) se forme une petite file de cellules qui ressemblent, par leurs dimensions et leur coloration, aux cellules superficielles du thalle.

Puis quelques divisions longitudinales se produisent (Fig. 4c) n'affectant cependant pas le volume de l'ensemble. Finalement, des divisions actives qui n'intéressent que quelques cellules du filament ainsi formé aboutissent à la mise en place d'un massif cellulaire (Fig. 4d et 5a) plus ou moins arrondi.

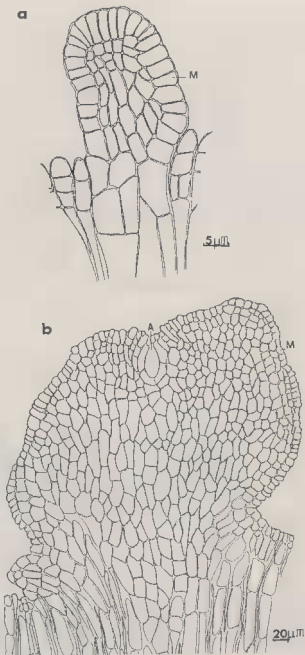


Fig. 5: Différenciation tissulaire à l'origine de nouveaux axes dressés. -a: développement du massif cellulaire avec un début de différenciation de méristoderme. -b: individualisation de la cellule apicale et formation de la crypte, (A: cellule apicale; M: méristoderme).

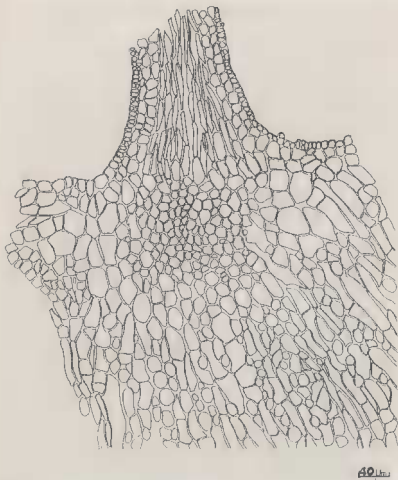


Fig. 6: Coupe longitudinale de la partie basale d'un nouvel axe. (Noter la continuité des tissus neoformés avec ceux du disque)

Phase de différenciation

A la surface du massif cellulaire, une cellule (la future cellule apicale) augmente de volume. La surface du massif cellulaire s'invagine, amenant ainsi la cellule apicale au fond d'une petite crypte remplie de mucilage. L'apicale (Fig. 5b) développe alors un petit axe ressemblant à une jeune plantule issue de la germination d'un zygote (Fig. 6).

Au cours de nos observations nous n'avons jamais trouvé, soit à la surface des fragments, soit inclus dans les tissus, de groupes de cellules dont l'aspect puisse évoquer la possibilité de la germination d'un zygote venu se

fixer sur les tissus de l'algue. De plus, il n'y a jamais de discontinuités tissulaires entre les axes des jeunes pousses et le disque originel.

Facteurs induisant la formation d'axes primaires surnuméraires

Régénération à partir de souches

Des algues entières dont les axes annuels ont été préservés, ne présentent qu'exceptionnellement des proliférations sur le disque basal. Par contre, lorsque l'axe primaire a été sectionné, de nombreux rameaux prennent naissance surtout sur les bords du disque. Lorsque la partie pérennante de l'axe est éliminée, des axes surnuméraires apparaissent non seulement sur les bords du disque, mais aussi sur les bords de la cicatrice centrale.

Régénération à partir de fragments de disque

Après trois mois de culture (tableau I), les tissus prélevés dans la partie moyenne du disque présentent la plus forte capacité à former des axes surnuméraires; par contre, les tissus du bord du disque régénèrent moins bien. Enfin la partie centrale ainsi que les premiers millimètres de l'axe pérennant ne fournissent pratiquement pas d'axes surnuméraires. Par ailleurs, les nouveaux axes prennent naissance préférentiellement sur les faces latérales des fragments plutôt que sur les faces inférieures ou supérieures.

Origine des fragments	Nombre de fragments mis en culture	% de régénération
Partie centrale du disque	36	11
Disque privé de sa partie centrale	7	85
Partie moyenne du disque	34	88,5
Bord externe du disque	60	31
Partie basale de l'axe primaire	33	24

Tableau I - Capacité de régénération des différentes parties du disque de fixation de *Sargassum muticum* exprimé en pourcentage de fragments qui ont développé des proliférations.

Les variations de la taille des fragments modifient les potentialités de régénération: ainsi pour des fragments de 5mm de côté, prélevés dans la partie moyenne du disque, le nombre d'axes surnuméraires produits est comparable à celui obtenu dans l'expérience précédente. Le pourcentage de fragments susceptibles de produire des repousses diminue proportionnellement à la taille des fragments, pour devenir nul lorsque les morceaux de tissu n'atteignent plus que 1mm de côté. Des observations réalisées au microscope sur ces fragments montrent cependant la présence de petites files de trois ou quatre cellules très pigmentées tout à fait semblables à celles observées aux premiers stades de développement de nouveaux axes.

DISCUSSION ET CONCLUSION

Ces observations tendent à démontrer que les axes surnuméraires portés par le disque de fixation de *Sargassum muticum* se développent à partir de cellules du disque et ne sont pas, comme le supposait Critchley (1983), des germinations issues de la reproduction sexuée déposées sur le disque basal.

L'axe primaire inhibe le développement, sur le disque, de tout axe de même type. Cette inhibition est levée lorsque l'axe primaire est supprimé ou mutilé par arrachage, quand par exemple l'algue est installée en mode battu; les disques portent alors un grand nombre d'axes de taille réduite très ramifiés.

Des phénomènes de dominance existent entre les apex des différentes ramifications du thalle (Chamberlain et al., 1979).

Gorham (1979) a par ailleurs mis en évidence l'influence des auxines et antiauxines sur la croissance des rameaux annuels.

Il apparaît d'autre part que les nouveaux axes apparaissent sur le pourtour du disque des souches alors que ce sont les parties moyennes des fragments isolés de disque qui présentent le plus fort pouvoir organogène. Il existe donc entre les différentes parties du disque des mécanismes de régulation et d'interdépendance dont le fonctionnement est interrompu par l'isolement des tissus. Le fait que les axes prennent préférentiellement naissance sur les faces latérales des fragments indique que les cellules profondes sont à l'origine des néoformations. Sur les disques intacts, leurs potentialités sont inhibées en raison de leur localisation interne (effet mécanique).

Enfin les variations d'expression des potentialités des cellules du disque en fonction de la taille des fragments montrent que le fragment doit avoir une taille critique (de l'ordre de 1mm³) en-dessous de laquelle le nombre de cellules vivantes est insuffisant pour assurer le développement d'axes.

Ces résultats permettent de confirmer la très grande capacité de développement de *Sargassum muticum* à partir des organes pérennants (disque et base de l'axe) et d'expliquer son aptitude à recoloniser très rapidement les sites d'où elle a été arrachée. Ils mettent en évidence des phénomènes de dominance, déjà montrés au niveau des apicales des axes primaires et secondaires, mais qui existent aussi au niveau des tissus du disque. Il serait intéressant d'étudier les mécanismes qui entrent en jeu dans ces phénomènes et en particulier d'établir le rôle des phytohormones (auxines et kinétine en particulier) sur la régénération.

BIBLIOGRAPHIE

- CHAMBERLAIN A.H.L., GORHAM J., KANE D.F. & DEWEY S.A., 1979 - Laboratory growth studies on *Sargassum muticum* (Yendo) Fensholt. II: Apical dominance. *Bot. Mar.* 22 (1): 11-19.
- COSSON J., DUGLET A. & BILLARD C., 1977 - Sur la végétation algale de l'étage littoral dans la région de Saint-Vaast-La-Hougue et la présence d'une espèce japonaise nouvelle pour les côtes françaises: *Sargassum muticum*

(Yendo) Fensholt (Phéophycée, Fucale). *Bull. Soc. Linn. Normandie* 105: 109-116.

CRITCHLEY A.T., 1981 - Age determination of *Sargassum muticum* (Yendo) Fensholt. *Brit. Phycol. J.* 16: 134.

CRITCHLEY A.T., 1983 - *Sargassum muticum*: a morphological description of european material. *J. Mar. Biol. Assoc. U.K.* 63 (4): 813-824.

FLETCHER R.L. & FLETCHER S.M., 1975 - Studies on the recently introduced alga *Sargassum muticum* (Yendo) Fensholt. I. Ecology and reproduction. *Bot. Mar.* 18 (3): 149-156.

FRIES L., 1963 - On the cultivation of axenic red algae. *Physiol. Plant. (Copenhagen)* 16 (3): 695-708.

GORHAM J., 1979 - Laboratory growth studies on *Sargassum muticum* (Yendo) Fensholt III: Effects of auxins and anti-auxins on extension growth. *Bot. Mar.* 22: 273-280.